

RESUME DE LA THESE DE DOCTORAT
DE SCIENCES NATURELLES (Biologie)

présentée le 15 Novembre 1969

à CLEMONT - FERRAND

par Jean HUBERT



CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA LIGNEE GERMINALE

CHEZ LES REPTILES LACERTILIENS ET OPHIDIENS.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548607_0014

RESUME DE LA PREMIERE PARTIE

L'étude cytologique et cytochimique des gonocytes primaires et des gonies est réalisée en microscopie photonique chez différents Reptiles. L'aspect ultrastructural de ces cellules est décrit chez le Lézard vivipare.

L'évolution des caractères cytoplasmiques et nucléaires mis en évidence est suivie au cours du développement embryonnaire. La persistance, après la naissance, de caractères nucléaires observés dans les gonocytes primaires est montrée chez le Lézard vivipare.

Chez les Reptiles considérés dans ce travail, les principaux caractères cytologiques des gonocytes primaires sont :

a) Au niveau du cytoplasme : des granules vitellins, du glycogène, une calotte juxtanucléaire mitochondriale, de nombreux liposomes et une trame cytoplasmique toujours plus faiblement colorée que celle des cellules somatiques.

La teneur en glycogène mise en évidence dans les gonocytes du Lézard vivipare et de la Vipère aspic n'est pas très importante. Au contraire, les liposomes sont très nombreux ; ceux-ci directement colorés par le tétroxyde d'osmium, marquent les gonocytes de façon très apparente.

De plus les gonocytes primaires du Lézard vivipare étudiés en microscopie électronique se révèlent relativement pauvres en polysomes et en ergastoplasme granulaire. Le reticulum endoplasmique de type lisse se développe au cours du développement embryonnaire. Les mitochondries possèdent assez peu de crêtes. L'appareil de Golgi est important.

Les gonocytes de type amiboïde émettent des pseudopodes parfois très importants ; ils contiennent des faisceaux fibrillaires

et des microtubules vraisemblablement en rapport avec le déplacement autonome de ces cellules. Ces gonocytes montrent une grande activité pinocytaire et rhophéocytaire ; ils sont capables d'ingérer des fragments cellulaires par phagocytose.

b) Au niveau du noyau : une chromatine diffuse peu chromophile, et chez certains Reptiles un grand nucléole annulaire flanqué d'une masse paranucléolaire très différente du nucléole.

Ce nucléole annulaire et cette masse paranucléolaire, qui n'ont jamais été signalés dans les cellules germinales embryonnaires des Vertébrés, sont particulièrement apparents chez le Lézard vivipare. La masse paranucléolaire est néanmoins bien visible chez le Lézard agile, le Lézard vert et la Vipère aspic. Ces deux éléments nucléaires particuliers n'ont pas été observés dans les gonocytes de l'Orvet.

La nature chimique de la masse paranucléolaire n'est pas complètement connue. Feulgen négative et non colorée par la pyronine, cette plage nucléaire manifeste certaines affinités tinctoriales qui inclinent à penser qu'elle est constituée en majeure partie de protéines basiques. L'anneau nucléolaire est plus riche en ARN que la zone interne.

L'étude ultrastructurale du noyau montre que l'anneau nucléolaire est constitué de granules et de trabécules fibrillaires denses très contrastés. Ces deux constituants nucléolaires se retrouvent toujours nettement séparés, quelle que soit la morphologie du nucléole. La zone interne du nucléole annulaire est principalement fibrillaire. La masse paranucléolaire de structure fibrillaire n'est pas entourée par une membrane.

L'évolution de ces caractères cytologiques chez le Lézard vivipare est rapportée dans le tableau I.

De façon générale, chez tous les Reptiles étudiés les lipides des spermatogonies et des ovogonies se résorbent progressivement peu après la différenciation sexuelle des gonades. La calotte juxtanucléaire subsiste dans les deux sexes après la naissance.

Les recherches menées chez le Lézard vivipare montrent que la masse paranucléolaire, visible dans les gonocytes primaires, se retrouve dans les spermatogonies et les ovocytes après la naissance.

Les caractères cytologiques mis en évidence dans les gonocytes primaires des Reptiles permettent de reconnaître ces cellules sans ambiguïté au cours du développement embryonnaire. La persistance de certains de ces caractères jusque chez l'adulte démontre la nature germinale de ces cellules.

Quelques hypothèses sur le métabolisme des gonocytes sont avancées.

Si la signification de la masse paranucléolaire est inconnue, une relation entre la forme en anneau du nucléole et une faible synthèse d'ARN est envisagée. La richesse lipidique des gonocytes de Reptiles pourrait être une conséquence de l'activité mitotique très réduite de ces cellules.

RESUME DE LA DEUXIEME PARTIE

La localisation précoce et le mode de migration des gonocytes primaires sont étudiés chez 6 Lacertiliens et 1 Ophidien. Les résultats de cette étude sont analysés, en fonction des mouvements morphogénétiques et d'un point de vue phylogénétique. La localisation extra-embryonnaire et le mode de migration des gonocytes sont représentés de façon schématique chez le Lézard vivipare et la Vipère aspic sur la planche XXXII.

1 - Localisation précoce des gonocytes primaires.

Chez le Lézard vivipare, les gonocytes primaires sont reconnus au sein du jeune germe vers la fin de la gastrulation dans le feuillet endophyllien, à proximité même de la plaque blastoporale. La localisation des gonocytes primaires dans la zone postérieure de l'aire extra-embryonnaire est très stricte chez ce Lacertilien. Il en est de même chez le Lézard agile, le Lézard vert et le Lézard des murailles.

L'ablation chirurgicale ou l'irradiation par les Rayons X du croissant extra-embryonnaire postérieur, supposé contenir les gonocytes chez le Lézard vivipare, provoque une diminution significative du nombre de gonocytes dans les crêtes génitales.

Chez l'Orvet les gonocytes sont répartis tout autour de l'embryon, peu avant l'établissement de la circulation sanguine.

Les gonocytes sont repérés chez la Vipère aspic, au tout début de la gastrulation, dans l'écusson embryonnaire lui-même, sous la zone blastoporale et un peu en avant de celle-ci. Les gonocytes sont reportés ensuite en avant de l'embryon par les mouvements cellulaires de la gastrulation.

La différence de localisation des gonocytes au sein de

l'aire extra-embryonnaire entre le Lézard vivipare et la Vipère aspic est due à des processus morphogénétiques précoces différents, vraisemblablement en rapport avec la formation de l'endoblaste définitif.

2 - Mode de migration des gonocytes primaires.

Chez le Lézard vivipare, le Lézard agile, le Lézard vert et le Lézard des murailles, les gonocytes émigrent depuis l'aire extra-embryonnaire jusqu'aux crêtes génitales en dehors de l'appareil vasculaire. Cette migration, dite de type interstitiel, est comparable dans son principe à celle que l'on connaît chez les Chéloniens et les Mammifères. Toutefois, chez les Lézards les gonocytes émigrent non seulement dans la splanchnopleure et la paroi du tube digestif, mais aussi dans la somatopleure. De plus, l'attraction de certaines ébauches mésodermiques (mésonephros, canal de Wolff) sur les cellules germinales rappelle l'attraction des organes mésodermiques dorsaux, démontrée chez les Anoures.

Chez la Vipère aspic et l'Orvet, les gonocytes gagnent les flots de Pander-Wolff, puis ils sont entraînés par le sang dans le réseau vasculaire de l'embryon. Ils quittent ce réseau au niveau de la splanchnopleure ou du mésentère dorsal et colonisent les crêtes génitales par mouvement amiboïdes. Quelques gonocytes postérieurs peuvent émigrer sans emprunter l'appareil vasculaire.

3 - Phylogénèse.

La lignée diapsidienne n'est pas unitaire en ce qui concerne la localisation extra-embryonnaire et le mode de migration des gonocytes primaires. De ce point de vue certains Lacertiliens sont proches des Chéloniens et des Mammifères, d'autres sont comparables aux Ophidiens et aux Oiseaux.

CONCLUSION GENERALE

Chez les Reptiles la présence d'inclusions vitellines cytoplasmiques plus tardive que dans les cellules somatiques constituait encore récemment le principal critère cytologique pour identifier les gonocytes primaires. Le nucléole annulaire et la masse paranucléolaire, que nous avons mis en évidence, sont beaucoup plus spécifiques, notamment aux jeunes stades du développement embryonnaire. L'utilisation de fixateurs osmiés a révélé une extrême richesse des gonocytes en complexes osmiophiles de nature lipidique. Ces lipides, directement colorés en noir par le tétroxyde d'osmium, marquent les gonocytes de façon plus apparente que les granules vitellins. Ces caractères cytologiques permettent donc d'identifier sans ambiguïté les gonocytes primaires. En outre, ces trois constituants subsistent beaucoup plus longtemps que les grains vitellins : les lipides ne se résorbent qu'au moment de la différenciation sexuelle de la gonade ; le nucléole annulaire est encore présent dans les spermatogonies à la fin du développement embryonnaire ; la masse paranucléolaire établit, pour la première fois chez les Vertébrés, une continuité cytologique directe de la lignée germinale depuis la fin de la gastrulation jusqu'à l'adulte. A ces trois caractères s'ajoute la calotte juxtanucléaire, visible dans les gonocytes primaires, les gonies et les ovocytes. Les critères cytologiques qui assurent le lien entre les "cellules migratrices" de l'embryon (gonocytes primaires) et les cellules germinales de la gonade adulte ne laissent donc aucun doute sur la nature germinale des gonocytes primaires d'origine extra-gonadique.

La distinction cytologique des gonocytes primaires peut tenir à deux processus différents : soit les gonocytes conservent les caractères des cellules embryonnaires indifférenciées que les cellules somatiques ont perdus, soit les gonocytes acquièrent des caractères qui leurs sont propres. Les recherches effectuées chez le Lézard vivipare montrent que les gonocytes de ce Reptile présentent certains aspects comparables à ceux des cellules indifférenciées. Mais, le nucléole annulaire et la masse paranucléolaire n'existent dans aucune cellule aux stades prégastruléens. Ce sont donc là deux caractères acquis par les gonocytes primaires. De plus, les gonocytes primaires, dès qu'ils se détachent de l'endophylle, deviennent essentiellement des cellules migratrices de type amiboïde dont ils possèdent les caractères morphologiques, cytologiques et physiologiques (émission de pseudopodes, présence de faisceaux fibrillaires, processus de pinocytose, rhophéocytose, phagocytose).

Paradoxalement éloignés des crêtes génitales, les gonocytes doivent atteindre ces ébauches pour réaliser leur destinée. Il semble alors que toutes les ressources de ces cellules soient mobilisées pour atteindre ce but. A cet égard, chez le Lézard vivipare l'inertie mitotique des gonocytes migrants est remarquable. Toute forme d'activité cellulaire n'ayant pas trait à la migration paraît momentanément inhibée dans les gonocytes. Il pourrait exister un mécanisme régulateur de la synthèse d'ARN messager qui empêcherait la transcription d'une partie du code génétique. Cette inhibition serait plus ou moins accentuée suivant les Vertébrés ; dans les cas extrêmes, comme le Lézard vivipare, elle se traduirait par l'évolution nucléolaire que nous décrivons. Cette évolution est en effet comparable à celle provoquée expérimentalement par les inhibiteurs de la synthèse enzymatique de l'ARN.

Les gonocytes primaires du Lézard vivipare montrent donc

une différenciation cytologique qui semble en rapport avec leur physiologie très spécialisée.

La signification de la masse paranucléolaire reste obscure. Sa présence constante dans les gonocytes, les gonies, et les ovocytes, incline à penser qu'elle est associée à l'état germinal, mais nous ignorons son rôle. De toutes façons, cette plage nucléaire mérite de retenir l'attention.

Si le nucléole en anneau et la masse paranucléolaire des gonocytes de certains Reptiles posent encore des problèmes quant à leur signification exacte, ils n'en constituent pas moins deux éléments cytologiques très utiles pour reconnaître les gonocytes. De plus ces deux aspects cytologiques pourraient être utilisés en tant que marquage naturel, dans le cas d'associations expérimentales, puisqu'ils n'existent pas chez l'Orvet ou les Oiseaux par exemple.

La lignée germinale des Reptiles est-elle "prédéterminée" ou "épigénétique" ? Il est bien difficile de répondre à cette question. Un fait est certain, nous n'avons pas pu reconnaître cytologiquement d'éléments germinaux avant la gastrulation. La différenciation des gonocytes primaires est certes plus précoce chez la Vipère aspic que chez le Lézard vivipare, mais dans les deux cas nous voyons ces gonocytes apparaître au cours de l'ontogenèse, comme si la ségrégation de la lignée germinale n'était qu'une forme de la différenciation embryonnaire. Toutefois, comme le souligne à juste titre Et. Wolff (1964), une "ségrégation" de la lignée germinale n'est pas forcément une "différenciation".

Divers problèmes relatifs à la localisation extra-embryonnaire et au mode de migration des gonocytes sont définitivement résolus. En ce qui concerne tout d'abord les Lacertilicns, des études antérieures (Tribic et Brambell, 1932 ; Pasteels, 1953 a et b) avaient montré une répartition diffuse des gonocytes dans

l'aire extra-embryonnaire et une migration vasculaire de ces cellules. Nous confirmons ces données chez l'Orvet. Mais nous apportons les preuves chez 4 sauriens que les gonocytes sont strictement localisés dans la zone postérieure de l'aire extra-embryonnaire et que ces cellules germinales émigrent selon le mode interstitiel, connu chez les Chéloniens et les Mammifères. L'étude histologique des jeunes germes de Lézard vivipare fournit des renseignements qui rendent compte de cette localisation strictement postérieure. La position des gonocytes au sein de l'aire extra-embryonnaire n'était pas établie chez la Vipère aspic et l'étude fragmentaire de Peyron (1938) ne permettait pas de conclure définitivement sur le mode de migration de ces cellules. Nous savons maintenant que les gonocytes sont reportés secondairement par les mouvements morphogènes en avant de l'embryon et que ces cellules émigrent par la voie vasculaire. Il y a lieu de retenir, en particulier, la localisation secondaire des gonocytes dans l'aire extra-embryonnaire antérieure. En effet, le déplacement de cellules germinales, initialement localisées dans la zone postérieure du germe, envisagé par Vakaet (1962), paraît être confirmé chez les Oiseaux (Fargeix, 1966, 1968 ; Dubois, 1967, 1969). Nous rapportons pour la première fois des faits qui plaident en faveur de cette hypothèse chez les Reptiles, mais nous montrons quelques différences avec les Oiseaux dans les modalités du déplacement de l'endophylle. L'évolution de la lignée germinale de la Vipère aspic est donc très comparable à celle de la lignée germinale des Oiseaux.

En ce qui concerne les facteurs responsables du mode de migration des gonocytes, l'étude micriscopique de nombreux embryons, à des stades variés de développement, nous a conduit à attribuer un rôle prédominant au mésoblaste et à la "proximité" des gonocytes par rapport à l'embryon. Sans confirmation expérimentale cette conception reste évidemment hypothétique mais nous sommes persuadés que le rôle du mésoblaste dans la migration des gonocytes ne doit

pas être écarté "a priori" chez les Reptiles. D'autre part, un certain nombre de cas "exceptionnels" signalés chez les Reptiles et les Oiseaux, nous incline à penser que, chez les Vertébrés Amniotes, la proximité plus ou moins grande des gonocytes par rapport à la tête ou à la zone caudale de l'embryon, détermine le mode de migration de ces cellules.

L'étude ultrastructurale des gonocytes primaires du Lézard vivipare révèle certains aspects cytologiques qui peuvent rendre compte en partie du moins du déplacement autonome et orienté de ces cellules. A ce sujet, le grand développement des processus de rhophéocytose et de pinocytose, dans les gonocytes de ce Lacertilien, n'est pas sans intérêt en fonction de l'hypothèse de Cuminge et Dubois (1969 a et b) sur le chimiotactisme qui détermine l'attraction des gonocytes par les crêtes génitales.

Les résultats de notre étude sur la lignée germinale des Reptiles illustrent bien l'hétérogénéité de ce groupe de Vertébrés. Les recherches antérieures menées chez les Chéloniens et les Lacertiliens montraient déjà une diversité de la localisation extra-embryonnaire et du mode de migration des gonocytes primaires chez les Reptiles. Ces travaux avaient conduit à séparer les Chéloniens et les Lacertiliens en deux groupes différents, le Sphenodon représentant le type de transition. Nous montrons que les Lacertiliens ne forment pas un groupe homogène. A l'heure actuelle les modalités relatives à la lignée germinale permettent de classer les Reptiles en deux grands groupes: les Chéloniens, certains Lacertiliens d'une part ; les Ophidiens et certains Lacertiliens d'autre part ; le Sphenodon restant un type de transition entre ces deux groupes. Toutefois, l'homogénéité du second groupe est moins nette que celle du premier. Ainsi, la localisation des gonocytes dans l'aire extra-embryonnaire apparaît plus diffuse chez l'Orvet ou le Caméléon que chez la Vipère aspic. D'autre part, il

nous semble prématuré d'étendre les modalités observées chez la Vipère aspic à tous les Ophidiens. Compte tenu que la lignée germinale des Crocodiliens reste à étudier, la constitution d'un troisième groupe ne doit pas être exclue.

Nous avons envisagé la signification "évolutive" que l'on peut attribuer au mode de migration des gonocytes primaires chez les Reptiles. Il reste à savoir si nous sommes bien en présence de modalités "phylogénétiques" ou seulement de "convergence". Quoiqu'il en soit, nous insistons sur le fait que l'enchaînement des causalités qui détermine le mode de migration des gonocytes est étroitement lié aux processus morphogénétiques précoces. Le phénomène évolutif se situerait donc d'abord au niveau des différents facteurs qui concourent, chez les Vertébrés, à la mise en place des feuilletts embryonnaires.

Comme nous le notions au début de ce Mémoire, l'Embryologie des Reptiles est relativement peu étudiée. La diversité de ce groupe et sa position dans la phylogenèse des Vertébrés en font pourtant un sujet d'étude particulièrement intéressant. En ce qui concerne la lignée germinale, il importait d'abord de combler sur le plan purement descriptif un certain nombre de lacunes. Mais nous avons été tenté au cours de cette étude d'interpréter nos observations histologiques, notamment sur le plan de la physiologie cellulaire, car la physiologie des gonocytes primaires est une question importante de la lignée germinale des Vertébrés. Les hypothèses que nous avons formulées devront être étayées par des preuves expérimentales. A cet égard, il nous semble que la signification de la masse paranucléolaire, du nucléole annulaire et des liposomes méritent d'être précisée. Ce sont là du moins les bases de recherches ultérieures.

